

肌酐检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1878

保存：-20℃避光保存 6 个月

规格：48T/96T

检测范围：0.00625-0.4mg/mL 灵敏度：0.00625mg/mL

适用样本：动物组织、细胞、血清（浆）、尿液等液体样品

产品简介

肌酐（creatinine, Cr）是肌肉在人体内代谢的产物，主要由肾小球滤过排出体外。血中的肌酐来源包括外源性和内源性两部分。外源性肌酐是肉类食物在体内代谢后的产物；内源性肌酐是体内肌肉组织代谢的产物。血肌酐几乎全部经肾小球滤过进入原尿，并且不被肾小管重吸收；内源性肌酐每日生成量几乎保持恒定，严格控制外源性肌酐的摄入时，血肌酐浓度为稳定值，因此，测定血肌酐浓度可以反映肾小球的滤过功能。本试剂盒提供了一种简单易用的比色法，用于检测样本中肌酐含量。其原理是：肌酐酶可催化肌酐产生肌酸，肌酸酶催化肌酸产生肌氨酸和尿素。肌氨酸在肌氨酸氧化酶的催化下氧化产生过氧化氢，过氧化物酶催化过氧化氢氧化 4-氨基安替比林偶联酚，生成红色醌类化合物；在 500nm 有特征吸收峰。测 500nm 处的吸光值，即可测定样品中肌酐含量。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃保存
试剂一	7.5mL	15mL	4℃避光保存
试剂二	1	1	-20℃避光保存
试剂三	10mL	20mL	4℃保存
标准品（10mg 肌酐）	粉剂×1 支	粉剂×1 支	4℃保存

自备耗材

酶标仪或可见分光光度计（能测 500nm 处的吸光度）

恒温箱、制冰机、低温离心机

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

试剂准备

提取液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

试剂二：临用前 96T 加入 5mL 试剂三，48T 加入 2.5mL 试剂三充分混匀待用。用不完的试剂可 4℃保存一周或分装后-20℃保存，避免反复冻融。

试剂三：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

工作液的配制：每孔配制 200μL 工作液：吸取 50μL 溶解后的试剂二，150μL 试剂一。工作液需现配现用，根据需要测定的样本数按比例配制。

标准品：含 10 mg 肌酐，临用前加入 1mL 去离子水溶解得 10 mg/mL 标准品。溶解后的标准品可 4℃保存 1 个月或分装-20℃长期保存。

标准曲线设置：按下表所示，用去离子水将 10mg/mL 标准品稀释为 0.4、0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125、0.00625mg/mL 的标准溶液。

产品说明书

	标准品体积 (μL)	去离子水体积 (μL)	标准品浓度 (mg/mL)
标准品 1	8μL 10mg/mL	192	0.4
标准品 2	100μL of 标准品 1 (0.4mg/mL)	100	0.2
标准品 3	100μL of 标准品 2 (0.2mg/mL)	100	0.1
标准品 4	100μL of 标准品 3 (0.1mg/mL)	100	0.05
标准品 5	100μL of 标准品 4 (0.05mg/mL)	100	0.025
标准品 6	100μL of 标准品 5 (0.025mg/mL)	100	0.0125
标准品 7	100μL of 标准品 6 (0.0125mg/mL)	100	0.00625

注意：每次实验，请使用新配制的标准品。

样本制备

动物组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，12,000g，4℃离心 10min，取上清液待测。

细胞或细菌：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞或细菌，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，冰浴超声波破碎细胞 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），然后 12,000g，4℃离心 10min，取上清待测。

血清（浆）、尿液等液体样本：直接测定。

注意：推荐使用新鲜血清样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 6 个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 500nm，可见分光光度计去离子水调零；恒温箱预热到 37℃。
2. 样本测定（在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂）：

	标准 (μL)	空白 (μL)	测定 (μL)	对照 (μL)
不同浓度标准品	20	0	0	0
样本	0	0	20	20
去离子水	0	20	0	0
工作液	200	200	200	0
试剂三	0	0	0	200

混匀，37℃静置 60min，测定 500nm 处吸光值 A。空白孔记为 A_空，标准孔记为 A_标，测定孔记为 A_测，对照孔记为 A_对。计算 $\Delta A_{测} = A_{测} - A_{对}$ ， $\Delta A_{标} = A_{标} - A_{空}$ 。

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果 ΔA 小于 0.005 可适当加大样本量。如果 ΔA 大于 1.0，样本可用提取液适当稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

结果计算

1. 标准曲线的绘制

以标准液浓度为 y 轴， $\Delta A_{标}$ 为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。将 $\Delta A_{测}$ 带入方程得到 y 值 (mg/mL)。

2. 肌酐含量计算

1) 按照样本鲜重计算

$$\text{肌酐含量 (mg/g 鲜重)} = y \times V_{样} \div (W \times V_{样} \div V_{样总}) \times n = y \div W \times n$$

2) 按照细菌或细胞数量计算

$$\text{肌酐含量 (mg/10}^4 \text{ cell)} = y \times V_{样} \div (\text{细胞数量} \times V_{样} \div V_{样总}) \times n = y \div 500 \times n = 0.002 \times y \times n$$

3) 按照液体体积计算

$$\text{肌酐含量 (mg/mL)} = y \times V_{样} \div V_{样} \times n = y \times n$$

产品说明书

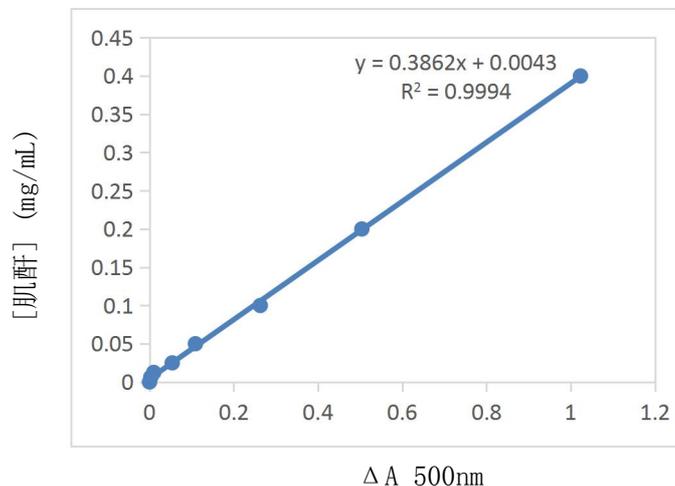
4) 按照蛋白浓度计算

$$\text{肌酐含量 (mg/mg prot)} = y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \times n = y \div \text{Cpr} \times n$$

$V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.02mL; W : 样本质量, g; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; n : 样本稀释倍数; Cpr : 样本蛋白浓度, mg/mL; 500: 细胞数量, 500 万。

结果展示

典型标准曲线



注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

- PMK1056 尿酸(UA)检测试剂盒(微量法)
- PMK1040 丙二醛(MDA)检测试剂盒(微量法)
- PMK1059 单宁检测试剂盒(微量法)
- PMK1047 蛋白质羰基检测试剂盒(微量法)
- PMK1057 总巯基检测试剂盒(微量法)

更多产品详情了解，请关注公众号：

